

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. N. HENNING)

Untersuchungen über das Säure-Basengleichgewicht bei Gesunden und Kranken*

I. Mitteilung

Von

HANS KINZLMEIER

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 9. August 1955)

I. Einleitung

Die Aufrechterhaltung des „Milieu interne“ der Säugetiere gehört zu den erstaunlichsten Leistungen in der Biologie. Komplizierte Regulationseinrichtungen sorgen dafür, daß die für die Zelltätigkeit optimalen Bedingungen gewahrt bleiben. Die Voraussetzungen hierfür sind in der Entwicklung der Wirbeltiere begründet. Ihre Vorfahren lebten im Meer des Cambriums, dessen Salzgehalt etwa $\frac{1}{3}$ des jetzigen betrug (R. QUINTON). Der größte Teil der Salze bestand aus Natriumbicarbonat und Kochsalz, die auch die wesentlichen Salze des Blutplasmas der Säugetiere sind. Durch den Überschuß an Natriumbicarbonat und Kohlensäure wurde ein leicht alkalisches Milieu gewährleistet. Das große Volumen und ein Gleichgewicht zwischen der Kohlensäure des Wassers und der Atmosphäre verhinderten Reaktionsverschiebungen. In ähnlicher Weise wurde der Mineralbestand durch den Austausch zwischen Wasser und den in dieser Zeitperiode entstehenden Gebirgen gesichert. Die in diesem Milieu lebenden Individuen konnten Flüssigkeit in beliebigen Mengen aufnehmen und mit gelösten Stoffwechselschlacken wieder abgeben. Ihre innere und äußere Umgebung zeigte keine Unterschiede bezüglich der Salzkonzentration. Die leicht alkalische Reaktion war für die Entwicklung der Zellen mit ihren komplizierten Fermentsystemen günstig.

Bei der Eroberung des Landes vor etwa 500 Millionen Jahren nahmen die Vertebraten einen kleinen Teil ihrer bisherigen Umgebung mit sich. Ihr war die gesamte Zelltätigkeit angepaßt. Die Tiere mußten die Fähigkeit entwickeln, dieses „Säure-Basengleichgewicht“ gegen die mannigfaltigen und stets wechselnden Einflüsse von außen zu verteidigen. Aus einfachen Zellmembranen, für Ionen und kleine Moleküle leicht durchgängig, entwickelten sich komplizierte Regulationseinrichtungen, wie Nieren, Lungen, Leber und Darm. Sie sorgen dafür, daß trotz eines

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

regen Stoffaustausches das innere Milieu in Zusammensetzung und physikalischen Eigenschaften — absolute Reaktion, osmotischer Druck, Konzentration organischer und anorganischer Bestandteile — stets gleich bleibt. Aus der zentralen Stellung, welche diese Organe im Stoffwechsel einnehmen, ergibt sich, daß Störungen innerhalb ihres Bereiches zu erheblichen Folgen für den Gesamtorganismus führen müssen.

Nachdem die methodischen Voraussetzungen erfüllt waren (HALDANE und PRIESTLEY, HABER und KLEMENSIEWICZ, HASSELBACH und LUNDSGARD, VAN SLYKE, STILLMANN, CULLEN, NEILL, SENDROY und WEISINGER (1—5), CULLEN und ROBINSON, HASTINGS, SENDROY und SHOCK u. a.), war das Studium des Säure-Basengleichgewichts Gegenstand intensiver physiologischer und klinischer Forschung. Mit relativ einfachen Methoden gelingt es, mit großer Genauigkeit quantitative Veränderungen des Mineralhaushaltes zu bestimmen.

Zwei grundlegende Untersuchungsmethoden — die Bestimmung der Alkalireserve (A.R.) und der Wasserstoffionenkonzentration (H^+ -Konz.) des Blutes — konnten sich jedoch keinen Platz im klinischen Routinelaboratorium erobern. Obwohl die Messung der aktuellen Reaktion des Blutes, wie die Bestimmung der A.R. waren bisher zeitraubend und setzten besonders geschultes Personal voraus. Die früher häufig zur Anwendung gekommenen colorimetrischen Methoden der p_H -Messung sind ungenau. Die Platin-Wasserstoffelektrode liefert wohl sehr genaue Meßwerte, scheidet jedoch ihrer Umständlichkeit halber aus. Einfach ist die Anwendung der Chinhydronelektrode. Ihr „Eiweiß- und Salzfehler“ macht sie jedoch für die Blut- p_H -Messung ungeeignet. Die wiederholt unternommenen Versuche mit sog. Nadelelektroden, das p_H im strömenden Blut zu messen, sind sämtlich fehlgeschlagen. Die hierzu verwendeten Metallelektroden (Palladium-Wasserstoff [v. BREHMER, ZUCKER und CAPALDI], Platin-Iridium [SCHLÖTTER, WEBER und SELBACH], Antimon [BRINKMANN, VERAÏN und TOUSSAINT]), zeichnen sich besonders durch die Inkonzanz der Elektrodenpotentials aus. Die Meßgenauigkeit liegt bei 0,1 p_H in einem Bereich, der die physiologische Schwankungsbreite der H^+ -Konz. des Blutes bereits übertrifft. Eine weitere Fehlerquelle bedeutet die Ableitung zur Bezugselektrode über den variablen Hautwiderstand. Daraus erklären sich wohl die eigenartigen, allen physiologischen Vorstellungen konträren Versuchsergebnisse mancher Autoren (v. BREHMER, PROKOP, VERAÏN), die zudem jede statistische Sicherung vermissen lassen.

Eine entscheidende Wandlung für die p_H -Messung brachte die Konstruktion der Glaselektrode (HABER, KRATZ). Ihr Elektrodenpotential kommt in seiner Konstanz der Wasserstoffelektrode gleich. Sie ist unempfindlich gegen Elektrodengifte und hat fast alle anderen Elektroden in Wissenschaft und Technik verdrängt. Infolge der hohen Widerstände stellt sie allerdings hinsichtlich der Meßinstrumente besondere Anforderungen, die in der Methodik näher erläutert sind. Jedoch haften auch den bisher zur Blut- p_H -Messung benutzten Glaselektroden erhebliche Mängel an, die ihre weitere Verbreitung behinderten. Zu den häufigsten und entscheidenden Fehlerquellen gehört das Abrauchen freier Kohlensäure aus dem biologischen Untersuchungsmaterial auf dem Weg von der Entnahme bis zur Messung. Hierauf hat in jüngster Zeit besonders KUKOWKA hingewiesen. Zur p_H -Messung muß das Blut ungerinnbar gemacht werden, da sich die H^+ -Konz. während des Gerinnungsvorganges unkontrollierbar nach der sauren Seite verschiebt (eigene Beobachtung). Das zur Gerinnungshemmung häufig verwendete Natriumcitrat oder -oxalat ist

hierfür ungeeignet, da es selbst als Puffersubstanz wirkt. Erschwerend kommt hinzu, daß die Verdünnung des Blutes das p_H in wechselndem Maße nach der alkalischen Seite verschiebt (WINTERSTEIN und FRÄNKEL-CONRAT).

Von den Methoden zur Bestimmung der A.R. haben die gasanalytischen nach VAN SLYKE (1, 2, 4) die häufigste Anwendung gefunden. Das Prinzip der Methode besteht bekanntlich darin, daß der Gehalt des Plasmas oder Vollblutes an Bicarbonat durch Überführung desselben in gasförmigen Zustand (als CO_2) ermittelt wird. Dem Vorteil großer Genauigkeit steht entgegen, daß zu ihrer Anwendung Erfahrungen in der gasanalytischen Technik erforderlich sind. Hinzu kommen die relativ hohen Kosten für die Apparatur sowie der verhältnismäßig große, für eine Analyse erforderliche Zeitaufwand. Dies mögen die Gründe dafür sein, daß sich diese und andere gasanalytische Methoden trotz der Wichtigkeit der mit ihrer Hilfe zu bestimmenden Größe nicht allgemein im klinischen Laboratorium eingebürgert haben.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war daher

1. eine für klinische Routineuntersuchungen geeignete Glaselektrode zur Messung der Wasserstoffionenkonzentration des Blutes zu konstruieren, durch die die angeführten Fehlerquellen ausgeschaltet werden;
2. die Titrationsmethode zur Bestimmung der Alkalireserve des Blutes soweit zu verbessern, daß eine sichere, einfache und schnelle Bestimmung dieser Größe auch durch ungeschulte Hilfskräfte möglich ist;
3. die Brauchbarkeit beider Methoden für Diagnostik und Therapie an einem größeren klinischen Untersuchungsmaterial zu prüfen.

II. Methodik

a) Glaselektrode zur Messung der H^+ -Konzentration des Blutes

Hinsichtlich der physikalischen Daten der Glaselektrode kann auf die einschlägigen physikalisch-chemischen Lehrbücher und Monographien verwiesen werden (KRATZ, KORDATZKI u. a.). Hier sei lediglich angeführt, daß die Potentialfunktion der Glaselektrode im Bereich biologischer Flüssigkeiten (Magensaft bis $\sim p_H 0,75$, Darmsaft bis $\sim p_H 8$) streng linear ist, wie das die Kurve von DOLE veranschaulicht (Abb. 1).

Die von uns 1952 entwickelte Meßkette ist in Form der sog. Einstabmeßkette ausgebildet, wie sie seit einigen Jahren immer größere Verwendung finden (Hersteller: Fa. Dr. Ingold, Zürich und Frankfurt a. M. und L. Pustl, München). In dieser sind sowohl die Meßelektrode wie die Bezugselektrode zu einer Einheit vereinigt. Da ihr Aufbau nicht allgemein bekannt ist, soll die Abb. 2 einen Einblick in die Konstruktion vermitteln. Eine Glaselektrode ähnlicher Konstruktion wurde inzwischen auch in den Jenaer Glaswerken VEB entwickelt (KUKOWKA 1954).

Auf ein Glasrohr aus gewöhnlichem Laboratoriumsglas ist eine kugelförmige Glasmembran aus Elektrodenglas (weiches Glas mit 22% Na_2O , 6% CaO und 72% SiO_2 ; Corning-Glas 015 nach McINNES und DOLE), aufgeschmolzen. Der Durchmesser dieser Meßmembran beträgt 8,5 mm, ihre Oberfläche etwa 325 mm². Die Dicke der Membran mißt etwa 10 μ , ihr Widerstand liegt bei 200 M Ω . Dies ist meßtechnisch wichtig, da der Elektrodenwiderstand mit zunehmender Membrandicke ansteigt, wodurch die Gefahr von Kriechströmen wächst. Das gilt auch hinsichtlich der Fläche der Meßmembran. Je kleiner der Durchmesser einer Elektrode, um so höher ihr Innenwiderstand, so daß sich eine zu kleine Meßmembran von selbst verbietet. Andererseits hält eine Glaskugel der erwähnten Dimensionen

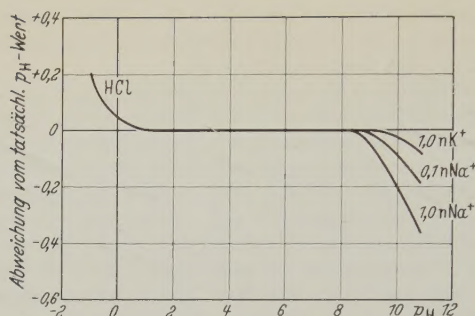


Abb. 1. Säure- und Basenfehler der Glaselektrode (nach DOLE)

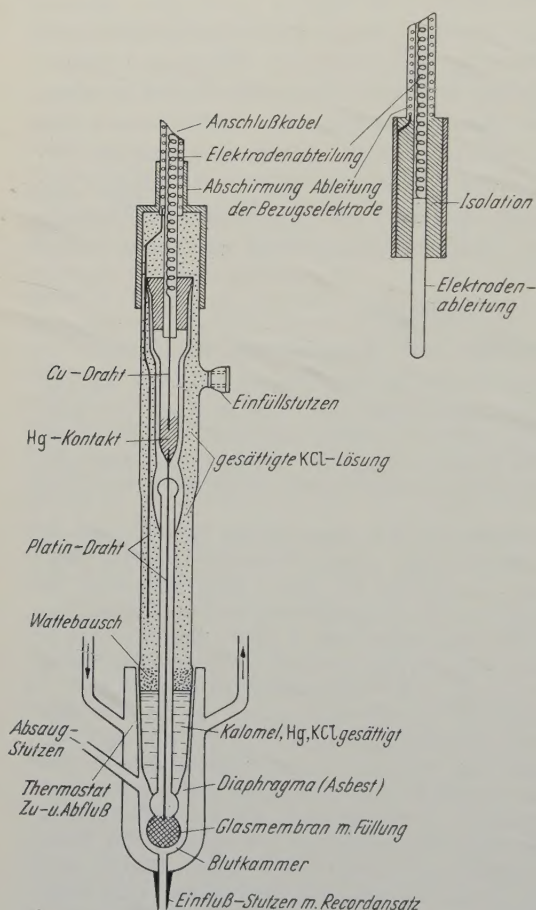


Abb. 2. Querschnitt der Blut-Glaselektrode

den bei der Blutentnahme auftretenden Belastungen — Zug beim Ansaugen und Druck bei Reinfusion — erfahrungsgemäß stand. Die Glaselektrode ist mit einer Bezugslösung gefüllt, deren pH von 7,40 dem zu erwartenden Meßwert des Blutes möglichst nahekommt. In diese Bezugslösung taucht ein dünner Platindraht ein, der nach oben frei in Quecksilber endigt. Den weiteren Kontakt stellt ein ebenfalls mit dem Quecksilber in Verbindung stehender Kupferdraht her. Dieser Kupferdraht führt, gut isoliert, zum Meßinstrument. Knapp über der kugelförmigen Meßmembran ist ein zweites, größeres Glasrohr angeschmolzen. Dieses Rohr ist außen conusförmig zugeschliffen und mit Kalomel, Quecksilber und gesättigter KCl-Lösung gefüllt und stellt die Bezugselektrode dar, deren Potential konstant ist. Die Anordnung geht aus Abb. 2 hervor. Die Ableitung zum Meßinstrument erfolgt über einen Platindraht von etwa 10 cm Länge. Dieser Platindraht ist mit der Abschirmung aus Kupferdraht verbunden, welche das Kabel mit der Ableitung der Meßelektrode umgibt. Durch einen besonders ausgebildeten Steckkontakt wird die Verbindung mit dem Meßinstrument hergestellt. Auf den erwähnten Schliff am unteren Ende der Elektrode wird das Meßgefäß aufgesetzt, das mit kurzen Ein- und Ausflußstutzen versehen ist. Das Gefäß faßt bei eingesetzter Glaselektrode $0,50 \text{ cm}^3$ Blut und ist von einem Temperiermantel umschlossen, welcher

durch 2 dünne Plastikschläuche an einen Durchflußthermostaten angeschlossen ist. Die Temperatur des durchgeleiteten Wassers beträgt 37°C . Diese Anordnung ermöglicht die p_{H} -Messung ohne wesentliche Temperaturdifferenz durchzuführen. Auf die Anwendung der BUNSENSchen Korrekturformeln wurde aus weiter unten genannten Gründen verzichtet.

Am Einflußstutzen des Elektrodengefäßes ist ein Metallconus eingekittet, auf den normale Rekordkanülen passen. Der Widerstand der beschriebenen Elektrode liegt bei etwa $200\text{ M}\Omega$. Deshalb genügt die einfache Kompensationsschaltung eines Nullinstrumentes von 10^{-7} bis 10^{-8} A Empfindlichkeit nicht mehr. Geringe Stromentnahmen, die man bisher vernachlässigen zu können glaubte, führen zu Polarisationen, die das Ergebnis fälschen. Zur Messung der elektromotorischen Kraft hochohmiger Glaselektroden sind daher elektrostatische Methoden notwendig, wie sie erstmals von STADIE (1922) zur p_{H} -Messung verwendet wurden.

MCINNES und BELCHER erreichten bei Verwendung eines Comptonelektrometers die bisher höchste Genauigkeit von $0,002\text{ }p_{\text{H}}$. Für praktische Zwecke werden heute fast nur noch Röhrenvoltmeter verwendet. Das Prinzip der Messung elektromotorischer Kräfte mit solchen Geräten besteht darin, daß das Nullinstrument in der bekannten Kompensations-

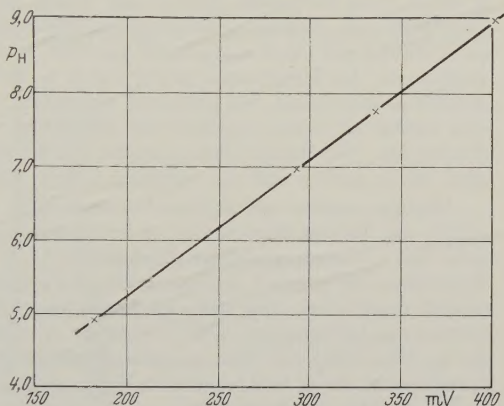


Abb. 3. Eichkurve der verwendeten Glaselektrode, gewonnen mit Hilfe von standardisierten Pufferlösungen. Auf der Abszisse ist die Spannung in Millivolt, auf der Ordinate der entsprechende p_{H} -Wert eingetragen

schaltung (POGGENDORFF) durch den Gitterkreis einer Elektrodenröhre ersetzt ist, deren Anodenstrom durch die als zusätzliche Gittervorspannung wirkende EMK der Glaselektrode gesteuert wird. Voraussetzung zur Messung von Glaselektrodenpotentialen ist allerdings, daß der Gitterstrom der Röhre genügend klein ist. Diese Bedingung ist nur bei Spezialröhren, sog. Elektrometer-röhren erfüllt, deren Gitterstrom auf 10^{-13} bis 10^{-15} A reduziert werden konnte. Wir verwendeten zu unseren Messungen ein Röhrenvoltmeter mit einer Genauigkeit von $\pm 0,1\text{ mV}$ (Firma *L. Pusch*, München).

Die p_{H} -Messung geht so vor sich, daß unter leichter Stauung die Kanüle (Rekord Nr. 1) in die Cubitalvene eingestochen wird. Die Stauung wird hierauf gelöst. Das Blut fließt, ohne daß ein Sog erforderlich ist, in das Meßgefäß ein und hat die Möglichkeit, durch den Ausflußstutzen in ein bereitgehaltenes Zentrifugenglas oder in eine aufgesetzte Spritze abzufließen. Die H^+ -Konz. des Blutes, welches unmittelbar nach der Punktion das Elektrodengefäß durchströmt, wird nicht gemessen, da es die Möglichkeit hat, CO_2 abzugeben. Dieses Blut wird zur Bestimmung der A.R. oder anderer Größen verwandt und soll, wenn es zur Bestimmung der A.R. nach VAN SLYKE bestimmt ist, durch Paraffinabschluß möglichst vor Berührung mit Luft geschützt werden. Dann erfolgt die Ablesung der elektromotorischen Kraft am Meßinstrument. Eine einfache Bestimmung des venösen Blut- p_{H} nimmt 2–3 min Zeit in Anspruch. Aus einer Eichkurve, die auf der Abszisse die Spannung in Millivolt, auf der Ordinate die dazugehörigen p_{H} -Werte

enthält, kann die gemessene H^+ -Konzentration mühelos abgelesen werden. Die Eichung der Elektrode erfolgt täglich vor und nach den Messungen in Pufferlösungen von p_H 6,98 und 7,80 bei $37^\circ C$. Die Abb. 3 zeigt eine entsprechende Eichkurve. Bei 260 Vergleichsmessungen ergab sich bei einem σ von 0,3 mV ein Mittelwert von 294,0 mV. Dies entspricht einem einwandfrei definierten Normalbereich von 293,4—294,6 mV für p_H 6,98.

b) Die photoelektrische Bestimmung der Alkalireserve des Blutes

Die von uns angewandte Methodik zur Bestimmung der A.R. beruht auf dem Prinzip der Titration einer bestimmten Menge Plasma mit einer Säure bekannter H^+ -Konz. (VAN SLYKE (3), HOLLO und WEISS, ELLINGER, ROHONYI, GRENNWALD und LEWMAN). Je nach dem Bicarbonatgehalt des betreffenden Plasmas wird bis zur Titration auf einen bestimmten p_H -Wert eine verschieden große Menge Säure verbraucht. Als Titrationsendpunkt wurde p_H 6,0 gewählt, da bei dieser H^+ -Konz. sämtliches Bicarbonat, wie gefordert, vertrieben ist (MOSER, ELLINGER). Andererseits werden bei diesem p_H -Wert die Alkalisalze von Fettsäuren noch nicht erfaßt (ELLINGER). Die Menge Alkaliphosphat, die bei einer Titration bis p_H 6 mittitriert wird, ist so gering, daß sie unberücksichtigt bleiben kann.

Dagegen werden als Puffersubstanzen auch ein Teil der Eiweißkörper mit-erfaßt, was bei der Berechnung zu berücksichtigen ist (s. u.). Als Titrationsindikator hat sich neben anderen Farbstoffen (z. B. Alizarinrot [ROHONYI]) Bromthymolblau als geeignet erwiesen. Dieser Farbstoff reagiert in 0,2% Lösung genügend empfindlich und wird durch die hinzugefügte Salzsäure oder durch die freigesetzte Kohlensäure nicht verändert (ELLINGER). Die Vergleiche zwischen der p_H -Testlösung und dem zu untersuchenden Serum erfolgen in einem Walpole-Komparator. Nach herkömmlicher Weise werden die so ermittelten Säuremengen in Vol.-% CO_2 umgerechnet:

$$(n - 0,08) 224 = \text{Vol.-% } CO_2$$

$$n = \text{verbrauchte cm}^3 \frac{n}{10} \text{ HCl; } 22,4 \cdot 10, \text{ da mit } \frac{n}{10} \text{ HCl titriert wird.}$$

0,08 = Eiweißumrechnungsfaktor (Durchschnittswert der durch Alkaliproteinat gebundenen Menge HCl bei einer Titration bis p_H 6,0 [ELLINGER]).

Es ist auffallend, daß sich ein so einfaches Prinzip, wie das eben beschriebene, für die Bestimmung der A.R. gegenüber den vergleichsweise recht umständlichen gasanalytischen Verfahren nicht durchgesetzt hat. Das hat mehrere Gründe: Der Farbvergleich zwischen titriertem Serum und der Testlösung ist abhängig vom Farbunterscheidungsvermögen des Untersuchers. Ferner ist eine Bestimmung der A.R. bei künstlicher Beleuchtung nicht möglich. Ein weiterer wesentlicher Nachteil besteht darin, daß die Bestimmung des Endpunktes der Titration weder bei ikterischen und getrübbten, noch bei lipämischen Seren möglich ist (MÜLLER). Damit steht und fällt aber eine Methode zur Bestimmung der A.R., denn das Gros des Untersuchungsgutes entstammt einem Krankenmaterial, bei dem entsprechende Abweichungen zu erwarten sind. Nachteilig wirkt sich ferner aus, daß brauchbare Werte nur von Nüchternseren erhalten werden, eine Bedingung, die bei akuten Fällen oft nicht erfüllt ist.

Wir umgingen die beschriebenen Hindernisse dadurch, daß wir die Bestimmung der A.R. vom Tageslicht und von der subjektiven Beobachtung unabhängig machten. Die hierfür verwendete Versuchsanordnung ist aus Abb. 4 ersichtlich.

Eine Stromquelle (12 V) speist eine Soffittenlampe (12 V, 5 W), die ihr Licht durch einen Kanal von 12 mm Durchmesser auf eine Selen-Photozelle (effektive

Fläche $1,4 \text{ cm}^2$; Fa. S. A. F. Nürnberg) wirft. Vor dieser Zelle ist ein zum Lichtkanal senkrecht gebohrter Schacht von 15 mm Durchmesser, welcher der Aufnahme eines Reagensglases mit der Meßlösung dient. In den Strahlengang ist ein Filter gebracht (Interferenzfilter $D_{\text{max}} 615$ Schott u. Gen., Mainz), das nur Licht von solcher Wellenlänge durchläßt, für welches der Indicator ein Absorptionsmaximum besitzt. Dadurch wird Licht von der Wellenlänge außerhalb des Absorptionsmaximums, das für die Messung unwichtig ist und nur als Ballast wirkt, ausgeschaltet. Die Photozelle ist an ein Millivoltmeter ($0-5 \text{ mV}$, Innenwiderstand 63Ω) angeschlossen. Die Intensität des Photostroms kann durch ein Drehpotentiometer (100Ω) variiert werden.

Die Bestimmung der A.R. geht so vor sich, daß zuerst die Photozelle mit Hilfe des erwähnten Drehpotentiometers geeicht wird ($2,5 \text{ mV}$ bei leerem Meßkanal). Dann wird die Indicatorlösung von $\text{pH } 6,0$, die in Phosphatpuffer nach

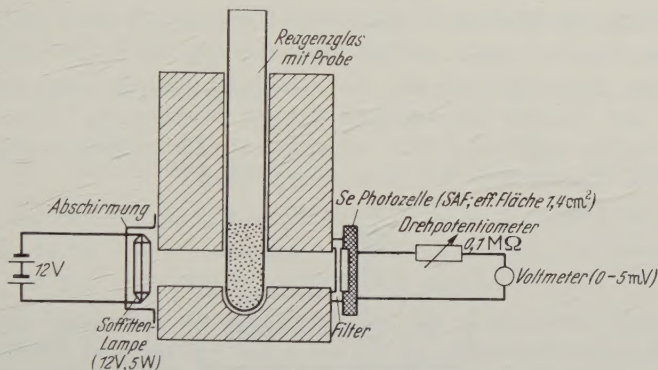


Abb. 4. Versuchsanordnung zur photoelektrischen Bestimmung der Alkalireserve. Schematische Darstellung

SÖRENSEN, $0,2\%$ Bromthymolblau enthält, in den Meßkanal gebracht. Dadurch wird der Photostrom um einen bestimmten Betrag abgeschwächt. Nunmehr wird die Indicatorlösung durch das Serum ersetzt, dessen A.R. bestimmt werden soll. Dieses Serum wird vor der Messung auf $1:4$ mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, wodurch die Eigenfarbe etwas reduziert wird. Der Photostrom wird bei Einbringen des Serums in den Strahlengang durch die als Zylinderlinse wirkende Flüssigkeit verstärkt. Jetzt erfolgt die Zugabe von $0,01 \text{ cm}^3$ Indicator ($0,2\%$ Bromthymolblau) zum Serum. Der Photostrom wird dadurch wieder etwas abgeschwächt. Schließlich wird durch Umrühren mit einem Glasstäbchen aus einer Bürette mit $1/100 \text{ cm}^3$ Graduierung soviel $\text{n}/10 \text{ HCl}$ hinzugegeben, bis ein pH von $6,0$ erreicht ist. Dies ist daran zu erkennen, daß der Zeiger des Millivoltmeters den für die Testlösung zutreffenden Wert anzeigt. Die Steuerung des Titrationsvorganges kann von einem Relais übernommen werden, dem vor Beginn der Titration der entsprechende Leerwert mitgeteilt wurde. Auf diese Weise wird der Meßvorgang weitgehend mechanisiert und somit von subjektiven Fehlern unabhängig.

Sämtliche Messungen wurden aus Gründen der Vergleichbarkeit an nüchternen Versuchspersonen vorgenommen, deren letzte Nahrungsaufnahme $12-14 \text{ Std}$ zurücklag. Die Versuche wurden in der Regel zur selben Tageszeit ($7-10 \text{ Uhr}$) durchgeführt.

Der statistischen Auswertung wurden die heute allgemein gebräuchlichen Formeln zugrundegelegt.

III. Ergebnisse

a) Die Wasserstoffionenkonzentration des venösen Blutes gesunder, erwachsener Versuchspersonen, gemessen mit der Durchflußelektrode

Die H⁺-Konz. gesunder Versuchspersonen wurde an insgesamt 300 Fällen bestimmt. Diese 300 Fälle teilen sich in 184 Männer und 116 Frauen im Alter von 18—60 Jahren. Nimmt man beide Versuchsgruppen zusammen, dann ergibt sich ein Mittelwert von $p_{H\ 37}^0 = 7,368 \pm 0,006$. Diesen Wert bezeichnen wir als venösen Ruhewert (ven. R.W.). Teilt man Männer und Frauen in 2 Gruppen, dann ergeben sich folgende Mittelwerte:

$$\text{Männer } p_{H\ 37}^0 = 7,368 \pm 0,008$$

$$\text{Frauen } p_{H\ 37}^0 = 7,366 \pm 0,010$$

Die beiden Mittelwerte unterscheiden sich demnach nicht signifikant. Als Normalbereich¹ ergibt sich für beide Gruppen ein $p_{H\ 37}^0$ von 7,30 bis 7,44. Der Normalbereich für die männliche Gruppe liegt zwischen p_H 7,30 und 7,44, für die weibliche Gruppe zwischen p_H 7,29 und 7,44 (die 3. Stellen sind auf-, bzw. abgerundet). Im einzelnen ergab die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse²:

Männer: 184 Fälle.

$$\sigma = 0,036$$

$$f_m = \frac{0,036}{\sqrt{184}} = 0,00266$$

$$M = 7,3686 \pm 0,0080$$

Normalbereich:

(Mittelwert $\pm 2\sigma$)

$$7,2966 - 7,4406$$

Frauen: 116 Fälle.

$$\sigma = 0,0362$$

$$f_m = \frac{0,0362}{\sqrt{116}} = 0,00348$$

$$M = 7,3663 \pm 0,0104$$

Normalbereich:

(Mittelwert $\pm 2\sigma$)

$$7,2939 - 7,4387$$

Männer und Frauen als eine Gruppe:

300 Fälle.

$$\sigma = 0,036$$

$$f_m = \frac{0,036}{\sqrt{300}} = 0,00208$$

$$M = 7,3677 \pm 0,00624$$

Normalbereich:

(Mittelwert $\pm 2\sigma$)

$$7,2957 - 7,4397$$

¹ Mittelwert $\pm 2\sigma$.

² Auf die Wiedergabe der tabellarisch zusammengefaßten Einzelwerte wurde hier wie auch in den folgenden Abschnitten aus Platzmangel verzichtet. Die Tabellen können vom Verfasser angefordert werden.

b) Die Erprobung der photoelektrischen Bestimmung der Alkalireserve an normalen und pathologischen Seren

Die Methode wurde an insgesamt 171 Fällen geprüft. Hiervon entfielen 150 Bestimmungen auf normale, 10 auf ikterische und 11 auf nephrotische oder lipämisch getrübbte Seren. Die lipämische Trübung des Serums wurde durch Verabreichung von 125 g Butter an gesunde Versuchspersonen hervorgerufen. Die Bestimmung der A.R. erfolgte 1, 2 und 4 Std nach der Fettmahlzeit. Zum Vergleich wurde in sämtlichen Fällen die A.R. mit der volumetrischen Methode nach VAN SLYKE bestimmt. Genauere Werte liefert zwar das manometrische Verfahren, doch genügen den klinischen Anforderungen die volumetrisch gewonnenen Werte durchaus. Die statistische Auswertung der Normalfälle ergab für beide Methoden folgende Werte:

Gasanalytische Bestimmung	Photoelektrische Bestimmung
150 Fälle $\sigma_g = 3,89$	150 Fälle $\sigma_{ph} = 3,67$
$f_m = 0,32$	$f_m = 0,30$
$M = 51,85 \pm 0,96 \text{ Vol.-% CO}_2$	$M = 51,15 \pm 0,90 \text{ Vol.-% CO}_2$

Zur Beurteilung der klinischen Brauchbarkeit der photoelektrischen Methode wurde die prozentuale Abweichung der mit ihr gewonnenen Werte von den gasanalytisch ermittelten errechnet.

Dabei ergab sich als Mittelwert für die prozentuale Abweichung $-1,0 \pm 0,6\%$ bei einem σ von 2,4. Die mit der photoelektrischen Methode erhaltenen Werte liegen also durchschnittlich um 1% niedriger als die gasanalytisch nach VAN SLYKE gewonnenen. Die Genauigkeit der Methode entspricht demnach durchaus den klinischen Forderungen.

Jedoch entspricht die Verteilung der prozentualen Abweichung nicht einer eindeutigen GAUSSschen Kurve. Es finden sich 2 Nebenmaxima von geringer Höhe bei $+1,75\%$ und bei $-3,5\%$.

IV. Diskussion

Die H⁺-Konz. und die A.R. des Blutes sind beim Menschen konstante Größen, die beim gesunden Individuum nur geringen Schwankungen unterworfen sind. Unseren Versuchsergebnissen entsprechend liegt der Mittelwert des venösen Blut- p_H gesunder Versuchspersonen bei p_H 7,37. Bei Berücksichtigung der doppelten quadratischen Streuung ergab sich ein Normalbereich, dessen unterer Grenzwert bei p_H 7,30, dessen oberer bei p_H 7,44 liegt. Entsprechend statistisch gesicherte Angaben finden sich im europäischen Schrifttum nicht. Die von uns ermittelten Normalwerte für die H⁺-Konz. des Blutes zeigen insofern eine Abweichung älterer Autoren, als sie geringfügig nach der sauren Seite verschoben sind. Sie stimmen jedoch mit den von SINGER und HASTINGS neuerdings mitgeteilten Befunden gut überein. Die von diesen

Autoren indirekt aus dem Verhältnis freie H_2CO_3 zu Bicarbonat- HCO_3 errechneten Mittelwerte liegen für Männer bei p_H 7,37, für Frauen bei p_H 7,34. Einen signifikanten Unterschied konnten wir in der H^+ -Konz. des Blutes zwischen Männer und Frauen in unseren Versuchen nicht feststellen.

Wie die Ergebnisse zeigen, hat sich die von uns angewandte Methode der H^+ -Ionenkonzentrationsbestimmung mit der Durchflußglaselektrode für Routineuntersuchungen als geeignet erwiesen. Die Elektrode ist einfach in der Handhabung und bedarf keiner besonderen Wartung. Ihr Elektrodenpotential ist konstant, die relativ hohe Wandstärke macht sie einigermaßen bruchsticher und vom Einfluß des Alterns unabhängiger. Einen Nachteil stellt der durch die Membrandicke bedingte hohe Widerstand dar. Er bedingt die Verwendung eines teuren Meßinstruments. Da jedoch genaue Messungen des Blut- p_H nur mit hochentwickelten Geräten möglich sind, muß man diesen Nachteil in Kauf nehmen, denn schon geringe Abweichungen der H^+ -Konz. des Blutes vom Normalen, die bei anderen biologischen Flüssigkeiten wie Magensaft, Galle oder Urin bedeutungslos sind, führen bereits zu erheblichen Störungen des Gesamtorganismus. Die Glaselektrode ist bewußt als Durchflußelektrode zur Messung am Blutgefäß konstruiert. Hierdurch werden die oben angeführten Nachteile der bisherigen in vitro-Bestimmung des Blut- p_H vermieden. Intravasale Messungen der H^+ -Konz. des Blutes am Menschen sind mit den heutigen Möglichkeiten nicht durchführbar. Die in dieser Richtung mit sog. Nadelelektroden unternommenen Versuche waren sämtlich erfolglos und stifteten zum Teil erhebliche Verwirrung (v. BREHMER).

Bewußt wurde auf die Anwendung der BUNSENSchen Korrekturformel zur Begleichung des Temperaturfehlers verzichtet und die umständlichere Anwendung eines Durchflußthermostaten vorgezogen. Der Einbau eines Thermometers in das Meßgerät hätte die Vergrößerung des letzteren und damit auch der Blutmenge bedingt. Die Verwendung des Thermostaten bietet ferner die Gewähr, daß während der p_H -Messung Glaselektrode und Elektrodeninnenfüllung gleiche Temperatur aufweisen, womit eine Fehlerquelle, auf deren Bedeutung auch KUKOWKA hinweist, beseitigt ist. Zur Erzielung einer maximalen Genauigkeit gehört auch eine exakte Ablesung am Meßinstrument, unmittelbar im Anschluß an die Entnahme der ersten 5 cm³ Blut, das, wie bereits oben erwähnt, zur Bestimmung der Serumelektrolyte oder der A.R. verwendet wird. Keinesfalls darf mit der p_H -Messung der Eintritt des Gerinnungsvorganges abgewartet werden, da sich hierbei p_H -Änderungen einstellen. Ob diese Verschiebungen mit dem Gerinnungsvorgang selbst zusammenhängen oder bereits auf eine beginnende Glykolyse zurückgeführt werden können, prüfen wir zur Zeit. Wir führen

die größere Streuung in den Ergebnissen anderer Autoren zum großen Teil darauf zurück, daß die angeführten Bedingungen nicht streng eingehalten wurden. Eine weitere unerläßliche Bedingung ist auch eine gut funktionierende Glaselektrode. Die Herstellung einer wirklich gut arbeitenden Elektrode scheint nach unseren eigenen Erfahrungen ein Glückszufall zu sein und kostet Geduld und Mühe. Daß nur ein hochleistungsfähiges Meßinstrument für die Messung des Blut- p_H geeignet ist, bedarf keiner besonderen Erwähnung. Meßinstrumente ohne absolute Nullpunktkonstanz sind abzulehnen.

Über die A.R. des Blutes liegt ein reichliches Zahlenmaterial vor. Entsprechend der Bedeutung dieser Größe für Klinik und Forschung sind verschiedene Methoden zu ihrer Bestimmung ausgearbeitet worden. (VAN SLYKE und Mitarbeiter (1—5), HOLLO und WEISS, ELLINGER, ROHONYI.) Von ihnen konnten sich nur die gasanalytischen (VAN SLYKE und Mitarbeiter) durchsetzen. Der Vorteil genauerer Versuchsergebnisse wird jedoch damit erkauft, daß die Apparatur relativ kostspielig ist und zu ihrer Bedienung besonders geschulter Kräfte bedarf. Letztere Bedingung ist, von Universitätsinstituten und größeren Krankenhäusern abgesehen, nur selten erfüllt.

Die photoelektrische Methode zur Bestimmung der A.R. ist einfach und liefert auch in pathologisch veränderten Seren brauchbare Werte. Sie ist von subjektiven Fehlern weitgehend unabhängig und kann innerhalb weniger Minuten durchgeführt werden. Ihre Brauchbarkeit wird durch die Übereinstimmung der aus je 150 Bestimmungen errechneten quadratischen Streuung $\sigma_g = 3,89$ $\sigma_{\text{phot}} = 3,67$ bewiesen. Durch die Säuretitration werden allerdings neben dem Bicarbonat auch andere, im Plasma vorhandene Puffersysteme erfaßt (Eiweißkörper, Alkalisalze und Fettsäuren, Phosphate), so daß streng genommen nicht von einer Bestimmung der A.R., sondern der Pufferkapazität gesprochen werden müßte. Indessen hat ELLINGER nachgewiesen, daß bei einem Titrationsendpunkt von p_H 6 die Alkalisalze von Fettsäuren noch nicht erfaßt werden und daß die mittitrierten Phosphatmengen zu gering sind, um eine nennenswerte Säuremenge zu neutralisieren. Ein Teil der Plasma-eiweißkörper geht in die Titration mit ein. Dies bedeutet einen Nachteil für die Titrationsmethode. Der hierdurch entstehende Fehler fällt jedoch, wie aus der geringfügig abweichenden quadratischen Streuung ersichtlich ist, nicht entscheidend ins Gewicht. Größere Abweichungen — in einem Falle bis 3,6% — ergaben sich bei Niereninsuffizienz. Hierbei spielen Eiweißkörper sowie Anionen der Rest-N-Gruppe eine Rolle, deren Auftreten im Blut mit der Niereninsuffizienz zusammenhängt. Durch Rücktitration konnte dieser Fehler nicht wesentlich verbessert werden. Es ist möglich, daß der Eiweißfaktor auch verantwortlich für die in der Häufigkeitskurve zutage getretenen 2 kleinen Nebenmaxima

ist. Inwieweit durch Ausfällung der Eiweißkörper eine Verbesserung der Ergebnisse erzielt werden kann, wird zur Zeit geprüft.

Zusammenfassung

1. Es wird eine Glaselektrode beschrieben, die in Form der Einstabmeßkette als Durchflußelektrode die Messung der H^+ -Konz. des Blutes direkt am Blutgefäß erlaubt. Durch diese Anordnung werden die bisherigen Schwierigkeiten der intravasalen und in vitro Messung der H^+ -Konz. des Blutes umgangen. In 260 Vergleichsmessungen mit Pufferlösungen bekannten p_H -Wertes erwies sich die Potentialkonstanz als befriedigend. Die Elektrode ist einfach zu handhaben und für den klinischen Routinebetrieb geeignet.

2. Die aus 300 Fällen ermittelte H^+ -Konz. ($37^\circ C$) des venösen Blutes gesunder Versuchspersonen liegt bei $p_H 7,36 \pm 0,0062$. Die statistische Auswertung ergab einen Normalbereich (Mittelwert $\pm 2 \sigma$) von $p_H 7,29$ bis $7,44$.

3. Es wird eine Versuchsanordnung beschrieben, mit deren Hilfe die A.R. des Blutes einfach und schnell bestimmt werden kann. Die Methode beruht auf dem Prinzip der photoelektrisch verfolgten Titration von Serum mit einer Säure bekannter H^+ -Konz. Sie erlaubt die A.R. auch in stark getrübbten oder ikterisch verfärbten Seren zu bestimmen. In 171 Bestimmungen wurden die Ergebnisse mit den gasanalytisch ermittelten Werten verglichen. Die beiden Mittelwerte stimmen signifikant überein.

Literatur

- BREHMER, W. v.: Med. Welt **1933**, 1737—1740. — BRINKMANN, R.: p_H -Messungen im strömenden Blut. In ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Abt. III, Teil A/II. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1928—1930. CULLEN, G. E., and H. W. ROBINSON: J. of Biol. Chem. **57**, 533 (1923). — DOLE, M.: Theoretical and experimental Electrochemistry. New York 1935. — ELLINGER, F.: (1) Klin. Wschr. **1931II**, 2036. — (2) Biochem. Z. **238**, 80 (1931). — GREENWALD, J., and G. LEWMAN: J. of Biol. Chem. **54**, 263 (1922). — HABER, F., u. Z. KLEMENSIEWICZ: Z. physik. Chem. **67**, 385 (1909). — HALDANE, J. S., and J. G. PRIESTLEY: J. of Physiol. **32**, 225 (1905). — HASSELBACH, K. A.: Biochem. Z. **47**, 403 (1912). — HASSELBACH, K. A., u. C. LUNDSGARD: Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **27**, 13 (1911). — Zit. nach L. J. HENDERSON Blut., Seine Pathologie und Physiologie. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1932. — HASTINGS, A. B., and J. SENDROY jr.: J. of Biol. Chem. **61**, 695 (1924). — HASTINGS, A. B., and N. W. SHOCK: J. of Biol. Chem. **104**, 565 (1934). — HOLLO, J., u. ST. WEISS: Biochem. Z. **150**, 501 (1924). — KORDATZKI, W.: Taschenbuch der praktischen p_H -Messung. München: Müller u. Steinicke 1949. — KRATZ, L.: Z. Elektrochem. **46**, 253 (1940). — KUKOWKA, A.: Abh. physik. Ther. **1**, 14 (1954). — MCINNES, D. A., and J. BELCHER: Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. **1**, 57 (1929). — MOSER, H.: Kolloidchem. Beih. **25**, 63 (1927). — MÜLLER, J.: Klin. Wschr. **1931II**, 2038. — PROKOP, L.: Medizinische **1952**, 1622. — QUINTON, R.: L'Eau de mer milieu organique. Paris 1904. — ROHONYI, H.: Münch. med. Wschr. **1920**, 1463. —

SCHLÖTTER, H.: Zit. nach E. WEBER, u. H. SELBACH loc. cit. — SINGER, R. B., and A. B. HASTINGS: Acid-Base data for human blood. Normal Standards and Some Physiol. Variations. Washington 1950. — (1) SLYKE, D. D. VAN: J. of Biol. Chem. **73**, 121 (1927). — (2) SLYKE, D. D. VAN, E. STILLMAN and G. E. CULLEN: J. of Biol. Chem. **38**, 167 (1919). — (3) SLYKE, D. D. VAN, and J. H. NEILL: J. of Biol. Chem. **61**, 523 (1934). — (4) SLYKE, D. D. VAN, and J. J. SENDROY: J. of Biol. Chem. **73**, 127 (1927); **84**, 217 (1929). — (5) SLYKE, D. D. VAN, I. R. WEISINGER and K. K. VAN SLYKE: J. of Biol. Chem. **179**, 743 (1949). — STADIE, W. C.: J. of Biol. Chem. **83**, 477 (1922). — VERAINE, M., et CH. TOUSSAINT: C. r. Soc. Biol. Paris **103**, 611 (1930). Ref. Kongreßzbl. inn. Med. **59**, 34 (1931). — WEBER, E., u. H. SELBACH: Z. exper. Med. **107**, 257 (1940). — WINTERSTEIN, H., u. H. L. FRAENKEL-CONRAT: Pflügers Arch. **222**, 762 (1929). — ZUCKER, D., u. B. CAPALDI: Radiol. Rdsch. **6**, 44 (1937).

Priv.-Doz. Dr. HANS KINZLMEIER, Med. Universitätsklinik, Erlangen

